

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-235084

(43)Date of publication of application : 23.08.2002

(51)Int.Cl.

C09K 15/34
A23L 1/30
A61K 7/00
A61K 35/64
A61K 35/80
A61K 35/84
A61P 3/10
A61P 9/10
A61P 35/00
A61P 43/00

(21)Application number : 2001-031840

(71)Applicant : ISHIKAWA TENNEN YAKKO BUSSHITSU
KENKYU CENTER
YAMAGUCHI NOBUO

(22)Date of filing : 08.02.2001

(72)Inventor : YAMAGUCHI NOBUO
KATAGIRI MIKIYUKI

(54) ANTIOXIDANT

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain an antioxidant containing one kind of or a mixture of two kinds of antioxidative material(s) having excellent active oxygen-eliminating activity as the active ingredient, wherein compositions such as medicines, foods, cosmetics, and the like, each containing the antioxidant have suppressing effect on lesions caused by active oxygen generated in living bodies and are much useful in medical treatment.

SOLUTION: This antioxidant is characterized by comprising as the active ingredient one kind selected from the group consisting of Agaricus, Fomes yucatus and propolis or comprising as the active ingredient a mixture of two kinds selected from the group consisting of the Agaricus, the Fomes yucatus, the propolis and chlorella heat-treated at normal pressure or under pressurization. The compositions such as medicines, foods, cosmetics, and the like are characterized by containing the antioxidant.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

BEST AVAILABLE COPY

T AVAILABLE COPY

* NOTICES *

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] The anti-oxidant characterized by containing one sort chosen from agaricus, Phellinus Linteus, and the group that consists of propolis as an active principle.

[Claim 2] The anti-oxidant characterized by containing two sorts of mixture chosen from the group which consists of chlorella heat-treated under agaricus, Phellinus Linteus, propolis and ordinary pressure, or pressurization as an active principle.

[Claim 3] The anti-oxidant according to claim 2 whose active principle is the mixture of agaricus and Phellinus Linteus.

[Claim 4] The anti-oxidant according to claim 2 whose active principle is the mixture of agaricus and propolis.

[Claim 5] The anti-oxidant according to claim 2 which is the mixture of chlorella which the active principle heat-treated under agaricus, ordinary pressure, or pressurization.

[Claim 6] The constituent characterized by containing the anti-oxidant of a publication in any 1 term of claims 1-5.

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention relates to the anti-oxidant characterized by containing two sorts of mixture chosen from the group which consists of the chlorella heat-treated under one sort chosen from agaricus, Phellinus Linteus, and the group that consists of propolis or agaricus, Phellinus Linteus, propolis and ordinary pressure, or pressurization as an active principle. Furthermore, this invention relates to the various constituents characterized by containing the anti-oxidant concerned.

[0002]

[Description of the Prior Art] Oxygen arises in a respiratory process into a cell in recent years, and also it is becoming clear that the "active oxygen" produced in the exposure of a radiation or ultraviolet rays, the metabolic turnover process of a carcinogen, etc. reacts with unsaturated fatty acid, produces peroxy lipid, and has a bad influence on the body. Active oxygen is generated from water or oxygen, is the molecular species which was rich in reactivity with an unstable unpaired electron, and, generally means four sorts, a superoxide anion radical, a hydroxy radical, a hydrogen peroxide, and singlet oxygen. If there is too much active oxygen, it will cause oxidation failures, such as a lipid which is a biogenic substance, and protein, a nucleic acid, it causes illnesses, such as a gun, and arteriosclerosis, diabetes mellitus, and leads also to promotion of aging. Thus, since it has a bad influence on a living body, the antioxidant which has the operation which eliminates this attracts attention in recent years, and active oxygen has much reports. The polyphenol component of wine or chocolate is the most famous and the high polyphenol food which raised this content is developed. In addition, as an antioxidant, various kinds of flavonoids and those related components (a catechin, quercetine, kaempferol, myricetin, rutin, an anthocyanin, saponins, etc.) are known. this invention persons found out that the chlorella which took heat measures under ordinary pressure or pressurization had the outstanding active oxygen elimination operation as a result of the new retrieval research of an antioxidant which has the active oxygen elimination operation superior to the antioxidant known from these former (application for patent No. 293452 [2000 to]).

[0003] Even if it calls it an antioxidant generally, that action mechanism is various and has the matter which carries out a direct reaction to active oxygen, and demonstrates an antioxidation operation independently, or the matter which demonstrates an antioxidation operation auxiliary by work of the catalyst who promotes this reaction. Therefore, in addition to retrieval of a new antioxidant, about an antioxidant, the further research is going to just desire from a viewpoint of not only the single effectiveness of these antioxidants but two or more effectiveness depended for making it cooperate like before.

[0004]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] This invention combines two sorts of antioxidants which have the action mechanism which is different from each other, and is about the antioxidation operation to offer the complementation and the anti-oxidant reinforced additively while it searches for the new antioxidant which has the outstanding active oxygen elimination operation and offers it as an anti-oxidant.

[0005]

[Means for Solving the Problem] While newly finding out having the active oxygen elimination operation which was excellent about agaricus, Phellinus Linteus, and propolis as a result of repeating research wholeheartedly that the above-mentioned technical problem should be solved, as for the antioxidation nature of agaricus, and Phellinus Linteus, propolis and the antioxidation nature of chlorella, this invention persons came to complete [the mutual antioxidation operation] a header and this invention for the ability to also reinforce [the complementation and] additively, when it differs mutually and they were combined.

[0006] That is, this invention is an anti-oxidant characterized by containing one sort chosen from agaricus, Phellinus Linteus, and the group that consists of propolis as an active principle. This invention is an anti-oxidant characterized by containing two sorts of mixture chosen from the group which consists of chlorella heat-treated under agaricus, Phellinus Linteus, propolis and ordinary pressure, or pressurization again as an active principle. Furthermore, this invention is a constituent characterized by containing the above-mentioned anti-oxidant.

Hereafter, this invention is explained more to a detail.

[0007]

[Embodiment of the Invention] (1) the property of the antioxidant used in this invention, and the preparation agaricus of preparation ** agaricus -- a mushroom (*Agaricus blazei murill*) belongs to the department of the Basidiomycetes agaric, is a polysaccharide mushroom containing most beta-D-glucan, and is also called the *Agaricus blazei Murill*. Since beta-D-glucan attracts attention as matter which is related to immunocyte, agaricus is expected as a health maintenance component. The antioxidant used for the anti-oxidant of this invention may be the fruit body or mycelium part of the above-mentioned agaricus, and may be any of the natural article extracted from a nature, or the culture article which carried out tank culture artificially. Although it is desirable to use what was ground to the particle as for a fruit body or a mycelium, a hot water extract may be carried out and what was freeze-dried may be used.

[0008] ** Preparation *Phellinus Linteus* (*Phellinus linteus*) of *Phellinus Linteus* belongs to Basidiomycetes Polyporaceae, is a mushroom which similarly contains most beta-D-glucan, and is also called *Phellinus linteus*. Since beta-D-glucan attracts attention as matter which is related to immunocyte, *Phellinus Linteus* is carried out to eating and drinking as a health maintenance component in Asian nations east. The antioxidation component used for the anti-oxidant of this invention may be the fruit body or mycelium of above-mentioned *Phellinus Linteus*, and may be any of the natural article extracted from a nature, or the culture article which carried out tank culture artificially. Although it is desirable to use what was ground to the particle as for a fruit body or a mycelium, a hot water extract may be carried out and what was freeze-dried may be used.

[0009] ** what preparation PURIPORISU of propolis mixes the secrete in a bee's own saliva with the resin which the honeybee extracted from the tree, and is made -- it is -- "bee -- tar -- " -- **** -- it is called. Since, as for propolis, various minerals, vegetable flavonoid, etc. are contained in abundance. It is regularly used as a health food material. The antioxidant used for the anti-oxidant of this invention may be the above-mentioned propolis, and may be any of the natural propolis extracted from the honeybee which inhabits a nature, or the honeybee bred artificially, or the propolis which extracted and refined this in water-soluble alcohol.

[0010] ** If the chlorella used in preparation this invention of the chlorella heat-treated under ordinary pressure or pressurization is Chlorophyceae belonging to Chlorella, it can choose the thing of arbitration and will not be limited to a specific kind. By this invention, acquisition is easy and can use *Chlorella vulgaris* (*Chlorella vulgaris*), a chlorella regular squirrel (*Chlorella regularis*), *Chlorella pyrenoidosa* (*Chlorella pyrenoidosa*), chlorella ERIPUSO Lidia (*Chlorella el lipsoidea*), etc. at a point excellent in safety.

[0011] The above-mentioned chlorella can be cultivated by the cultivation of arbitration, such as independent cultivation or subordinate cultivation, and can be proliferated. Independent cultivation is the approach of inoculating chlorella into the culture medium which added the inorganic metal salt and the nitrogen source, blowing the air containing carbon dioxide gas into the bottom of an optical exposure, making photosynthesize, and cultivating, and subordinate cultivation is the approach of cultivating in the culture medium which contains a glucose and an acetic acid as a carbon source.

[0012] In independent cultivation, as mineral salt added to a culture medium, the minute amount mineral constituent of KH_2P_04 and MgSO_4 grade is mentioned, and an ammonium sulfate, a urea, etc. are mentioned as a nitrogen source. Artificial sources, such as a lamp for vegetable cultivation besides sunlight, can be used for the light source. On the other hand, as for subordinate cultivation, it is desirable to carry out in sterile using a cultural tank. A culture medium is made to contain a glucose and an acetic acid as a carbon source, and what added the minute amount mineral constituent and the nitrogen source is used like independent cultivation. In the case of culture, aeration is carried out and supply and stirring of carbon dioxide gas are performed. Field culture is sufficient as these culture, and tank autosynnoia chain culture is sufficient as it. The chlorella cell after cultivating by these approaches is washed centrifugally with pure water (for example, 1000rpm, 10 minutes), and suspension is obtained. Below the 1×10^8 cell / ml of the concentration of suspension are desirable, and its 1×10^6 to 1×10^7 cells / ml are still more desirable.

[0013] Next, the obtained chlorella suspension is heat-treated under ordinary pressure or pressurization. It says processing with a 80-100 degrees C ["which is heat-treated under ordinary pressure"] above-mentioned ordinary pressure (one atmospheric pressure) steam or an above-mentioned heat-source generator, and says processing 100 degrees C or more preferably with a 120 degrees C - 150 degrees C pressurization (two atmospheric-pressures - 8 atmospheric pressure) steam or a heat-source generator, saying "it heat-treats under pressurization." Heat treatment under ordinary pressure can be performed within the container which can be heated under ordinary pressure (one atmospheric pressure), and heat treatment under pressurization can be performed within the container which can be heated under an autoclave or pressurization.

[0014] Moreover, as for the processing time, it is desirable to adjust so that correlation contrary to a pressure may arise. That is, a pressure and the processing time are set up so that it may become $xy \geq 5$ in a x axis in the two-dimensional coordinate which made the processing time the y-axis about a pressure. In this invention, the range of $xy = 5-10$ (namely, $5 \leq xy \leq 10$) is desirable. For example, if the conditions used as $5 \leq xy \leq 10$ are chosen, the processing time will be made into 2.5 minutes - 5 minutes when the processing time (y) is made into

1 minute – 2 minutes when a pressure (x) is made into five atmospheric pressures, and a pressure is made into two atmospheric pressures.

[0015] (2) The chlorella heat-treated under the agaricus obtained, respectively as was more than preparation of an anti-oxidant and various constituents, Phellinus Linteus, propolis, ordinary pressure, or pressurization. It remains as it is from having the active oxygen removal operation which is independent, or combined those two sorts, and was excellent. or the solid support and liquid support which are usually used, an emulsifier, etc. — dosage forms, such as a tablet, a granule, powder, powder material, water dispersible powder, an emulsion, and a capsule, — the very thing — it can pharmaceutical-preparation-ize by well-known technique, and can be used as an anti-oxidant. As the above-mentioned support, water, gelatin, starch, magnesium stearate, a lactose, gum arabic, vegetable oil, etc. are mentioned. desirable, when using as two sorts of mixture chosen from the chlorella heat-treated under agaricus, Phellinus Linteus, propolis, ordinary pressure, or pressurization above — it cooperates — making — ** — if it carries out, the chlorella heat-treated under agaricus, Phellinus Linteus and agaricus, propolis and agaricus, ordinary pressure, or pressurization is illustrated.

[0016] As an active principle in the anti-oxidant of this invention, when using any one sort of agaricus, Phellinus Linteus, and the propolis, making those contents into 0.01 – 10.0 % of the weight preferably 0.001 to 20.0% of the weight, although especially limitation is not carried out is illustrated. When using two sorts of mixture chosen from the chlorella heat-treated under agaricus, Phellinus Linteus, propolis, ordinary pressure, or pressurization as an active principle in the anti-oxidant of this invention, considering as the same content as the above, and setting the ratio of the two-sort component in mixture to 1:1, 2:1, or 1:2 is illustrated.

[0017] It is characterized by the constituent containing the anti-oxidant of this invention blending the above-mentioned anti-oxidant, and although the application is arbitrary, drugs, food, cosmetics, etc. are mentioned. Moreover, a pet besides Homo sapiens is sufficient as the candidate for application.

[0018] The physis constituent containing the anti-oxidant of this invention Ultraviolet rays, a living body eating-in-the-household cell, The various diseases supposed that the active oxygen produced by the radiation, the chemical, tobacco, stress, etc. beyond the need is concerned, For example, diabetic complications, myocardial infarction, arteriosclerosis, pneumonia, asthma, cerebral infarction, Parkinson's disease, a gastric ulcer, various kinds of malignant tumors, hepatitis, pancreatitis, a nephritis, atopic dermatitis, It is effective in prevention and therapies, such as a collagen disease, articular rheumatism, hypercholesterolemia, a cataract, general physical complaint (oversensitivity to cold, low back pain, stiffness in shoulder, constipation), Behcet's syndrome, Crohn's disease, a primary Raynaud syndrome, and face dyschromatosis thesaurismosis (permeating freckle).

[0019] When using the anti-oxidant of this invention as a physis constituent for a prevention therapy of each above-mentioned disease, insurance can be medicated parenterally or in taking orally to mammalians, such as Homo sapiens, a mouse, a rat, a rabbit, a dog, and a cat. Although the dose of this physis constituent can be suitably changed according to dosage forms, the administration route, a symptom, etc., applying 100mg – 5000mg per weight 1kg per day is illustrated in two sorts of mixture chosen from the chlorella heat-treated under any one sort of agaricus, Phellinus Linteus, and the propolis or agaricus, Phellinus Linteus, propolis, ordinary pressure, or pressurization.

[0020] As food which makes the anti-oxidant of this invention contain, it oxidizes by active oxygen, and fats and oils containing many unsaturated fatty acid which is easy to become peroxy lipid, such as margarine and vegetable oil, are begun, seasonings, such as drinks, such as meat workpieces, such as fishery boiled fish paste, such as rice, confectionary, noodles, and a boiled-fish-paste chikuwa, and a ham sausage, and a soft drink, a fruits drink, and a mayonnaise dressing, seasoning seasoning liquid, etc. are mentioned, and limitation is not carried out to these.

[0021] As cosmetics which make the anti-oxidant of this invention contain, face toilet, a milky lotion, a cream, foundation, the charge of washing their face, a hair treatment product (a shampoo, a rinse, hair treatment), etc. can be mentioned, for example. The surfactant used for the usual cosmetics, a moisturizer, a whitening agent, an ultraviolet ray absorbent, perfume, antiseptics, etc. may be suitably blended with these cosmetics.

[0022]

[Example] Hereafter, an example explains this invention still more concretely. However, this invention is not limited to these examples at all.

[Example 1] (preparation of an antioxidant)

- (1) The preparation agaricus (*Agaricus blazei murill*) of agaricus separated the fruit body from the preparation which grows wild in a nature, and acquired it by grinding this to 50–100 micrometers of average particles.
- (2) Preparation Phellinus Linteus (*Phellinus linteus*) of Phellinus Linteus separated the fruit body from the preparation which grows wild in a nature, and acquired it by grinding to 50–100 micrometers of average particles.
- (3) The preparation propolis of propolis was obtained by extracting from the honeybee (*Apis mellifera*; common name Western honeybee) of the breeding kind bred artificially.
- (4) After making it increase alternatively by the Dietmar culture medium and the Myers–N culture medium, the preparation chlorella (*Chlorella Pyrenoidosa*) of pressurization defervescence processing chlorella carried out field culture at 25 degrees C, washed the chlorella cell after culture centrifugally with pure water (1000rpm, 10

minutes), and obtained suspension. Concentration of suspension was carried out in 1x10⁸ pieces/ml. Pressurization defervescence processing chlorella was obtained by processing this chlorella suspension for 1 minute under the conditions of 120-degree-C two atmospheric pressures.

[0023] [Example 2] Active oxygen elimination trial (1)

According to Kazuyoshi Okubo's and others method (the Japan food science, the 38th volume, No. 8, 18-21 (1999)) of NYZ feeble emitting light, the agaricus obtained in the example 1, Phellinus Linteus, propolis, and heat treatment chlorella were made into the sample, and the active oxygen elimination ability was measured. This approach is used for measurement of active oxygen elimination ability using the phenomenon in which the natural radical elimination matter carries out feeble luminescence under active oxygen and acetaldehyde existence. It is generated at the three-cornered reaction of X (reactive oxygen species), Y (a proton, electron donator), and Z (catalyst kind), and the strength of the operation as Y (active oxygen elimination electron donor) and the capacity as Z (active oxygen elimination reaction catalyst), i.e., active oxygen elimination capacity, appears on a bitmapped image as luminescence brightness, and since this feeble luminescence can be evaluated, it is useful to the assay of the active oxygen elimination matter.

[0024] First, 0.5g of each sample was dissolved in acetaldehyde 4ml 10%, respectively, and it put 1ml at a time into each well. To this, X reagent (2% formic-acid solution), Y reagent (10% gallic-acid acetaldehyde solution), Z reagent (10%KHCO₃ acetaldehyde 1-butanol solution) It adds 1ml each in the combination of X reagent independence, XY reagent, XZ reagent, and YZ reagent. Make it react for 10 minutes, observe with a high sensitivity CCD camera, and luminescence brightness is measured using Lumino Imaging Analyzer FAS -1000 by Toyobo Co., Ltd. Media Cybernetic The quantum was carried out using shrine Gel-Pro Analyzer. The brightness (luminescence is observed with XZ reagent) as Y of each sample, the brightness (luminescence is observed with XY reagent) as Z, and the brightness (luminescence is observed with YZ reagent) as X are shown in the following table 1. Moreover, the bitmapped image which shows those brightness is shown in drawing 1.

[0025]

[Table 1]

試 料	Yとしての輝度	Zとしての輝度	Xとしての輝度
アガリクス	1, 5 2 0	8 6 6, 6 9 4	—
メシマコブ	9 9, 8 2 9	2, 0 1 1	—
プロボリス	6 9, 7 7 8	0	—
熱処理クロレラ	1 8 7, 7 4 5	1 1, 1 3 5	—

[0026] Z luminescence with strong agaricus is observed and it turns out that it is Z mold luminescence anti-oxidant so that clearly from the above-mentioned result. On the other hand, strong Y luminescence is observed and, as for Phellinus Linteus and propolis, it turns out that it is Y mold luminescence anti-oxidant. Moreover, feeble Z luminescence is also observed with very strong Y luminescence, and while being Y mold luminescence anti-oxidant, as for heat treatment chlorella, it turns out that it is Z mold luminescence anti-oxidant.

[0027] [Example 3] Active oxygen elimination trial (2)

The sample which carried out equivalent mixing 15mg at a time, and prepared the agaricus and Phellinus Linteus which were obtained in the example 1 was dissolved in acetaldehyde 1ml 10%, and it put into the well, respectively. Added each X reagent (2% formic-acid solution), Y reagent (10% gallic-acid acetaldehyde solution), and 1ml (10%KHCO₃ acetaldehyde 1-butanol solution) of Z reagents to this in the combination of X reagent independence, XY reagent, XZ reagent, and YZ reagent, they were made to react to it for 10 minutes, luminescence was observed to it with the high sensitivity CCD camera like the example 2, and measurement and the quantum of luminescence brightness were performed to it. The measurement result of the brightness (luminescence is observed with XZ reagent) as Y of the equivalent mixture sample of agaricus and Phellinus Linteus, the brightness (luminescence is observed with XY reagent) as Z, and the brightness (luminescence is observed with YZ reagent) as X is shown in the following table 2 with the result of an independent sample. Moreover, the bitmapped image which shows those brightness is shown in drawing 2.

[0028]

[Table 2]

試 料	Yとしての輝度	Zとしての輝度	Xとしての輝度
アガリクス	9, 815	885, 842	1.7
メシマコブ	68, 719	625	—
等量混合物	2, 293.5	887.6	—

[0029] The equivalent mixture of the agaricus of Z mold luminescence and Phellinus Linteus of Y mold luminescence is observed with sufficient balance of Y luminescence and Z luminescence, and the antioxidation nature to which both are different from each other can be referred to as being the complementation and the opposite oxidizer offered additively so that clearly from the above-mentioned result.

[0030] [Example 4] The sample which carried out equivalent mixing 15mg at a time, and prepared the agaricus and propolis which were obtained in the active oxygen elimination trial (3) example 1 was dissolved in

acetaldehyde 1ml 10%, and it put into the well, respectively. Added each X reagent (2% formic-acid solution), Y reagent (10% gallic-acid acetaldehyde solution), and 1ml (10%KHCO3 acetaldehyde 1-butanol solution) of Z reagents to this in the combination of X reagent independence, XY reagent, XZ reagent, and YZ reagent, they were made to react to it for 10 minutes, luminescence was observed to it with the high sensitivity CCD camera like the example 2, and measurement and the quantum of luminescence brightness were performed to it. The measurement result of the brightness (luminescence is observed with XZ reagent) as Y of the equivalent mixture sample of agaricus and propolis, the brightness (luminescence is observed with XY reagent) as Z, and the brightness (luminescence is observed with YZ reagent) as X is shown in the following table 3 with the result of an independent sample. Moreover, the bitmapped image which shows those brightness is shown in drawing 3 .

[0031]

[Table 3]

試 料	Yとしての輝度	Zとしての輝度	Xとしての輝度
アガリクス	1,470	326,940	—
プロポリス	107,918	0	—
等量混合物	85.8	30,840	—

[0032] The equivalent mixture of the agaricus of Z mold luminescence and the propolis of Y mold luminescence is observed with sufficient balance of Y luminescence and Z luminescence, and the antioxidation nature to which both are different from each other can be referred to as becoming the complementation and the opposite oxidizer offered additively so that clearly from the above-mentioned result.

[0033] [Example 5] Active oxygen elimination trial (4)

The sample which carried out equivalent mixing 80mg at a time, and prepared the agaricus and heat treatment chlorella which were obtained in the example 1 was dissolved in acetaldehyde 1ml 10%. This solution was used as the undiluted solution and 0.5ml of liquid which double-*****ed) was put into the well. Added each X reagent (2% formic-acid solution), Y reagent (10% gallic-acid acetaldehyde solution), and 1ml (10%KHCO3 acetaldehyde 1-butanol solution) of Z reagents in the combination of X reagent independence, XY reagent, XZ reagent, and YZ reagent, they were made to react for 10 minutes, luminescence was observed with the high sensitivity CCD camera like the example 2, and measurement and the quantum of luminescence brightness were performed. The measurement result of the brightness (luminescence is observed with XZ reagent) as Y of the equivalent mixture sample [low concentration (15mg), inside concentration (30mg), and high concentration (60mg)] of agaricus and heat treatment chlorella, the brightness (luminescence is observed with XY reagent) as Z, and the brightness (luminescence is observed with YZ reagent) as X is shown in the following table 4 with the result of an independent sample. Moreover, the bitmapped image which shows those brightness is shown in drawing 4 .

[0034]

[Table 4]

試 料	Yとしての輝度	Zとしての輝度	Xとしての輝度
アガリクス	6,531	95,584	—
熱処理クロレラ	77,689	2,361	—
等量混合物 (低濃度)	54,695	3,486	—
等量混合物 (中濃度)	76,885	12,368	—
等量混合物 (高濃度)	124,695	112,695	—

[0035] If the equivalent mixture of the agaricus of Z mold luminescence and the heat treatment chlorella of Y mold luminescence is observed with sufficient balance of Y luminescence and Z luminescence and concentration is raised, the effectiveness will become still more remarkable, and the antioxidation nature to which both are different from each other can be referred to as becoming the complementation and the opposite oxidizer offered additively so that clearly from the above-mentioned result.

[0036]

[Effect of the Invention] According to this invention, the anti-oxidant which made one sort or two sorts of mixture of the antioxidant which has the outstanding active oxygen elimination operation contain as an active principle is offered. Moreover, constituents, such as drugs which come to contain the anti-oxidant of this invention, food, and cosmetics, have the effectiveness which controls the failure caused by the quality of active oxygen generated in the living body, and are very useful on medicine.

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

DESCRIPTION OF DRAWINGS

[Brief Description of the Drawings]

[Drawing 1] It is the bitmapped image and the number of brightness which show active oxygen elimination luminescence (the brightness as Y, brightness as Z, brightness as X) agaricus, propolis, Phellinus Linteus, and heat treatment chlorella independent.

[Drawing 2] It is the bitmapped image and the number of brightness which show active oxygen elimination luminescence (the brightness as Y, brightness as Z, brightness as X) of agaricus (Z mold anti-oxidant) and Phellinus Linteus (Y mold anti-oxidant) equivalent mixture.

[Drawing 3] It is the bitmapped image and the number of brightness which show active oxygen elimination luminescence (the brightness as Y, brightness as Z, brightness as X) of agaricus (Z mold anti-oxidant) and propolis (Y mold anti-oxidant) equivalent mixture.

[Drawing 4] It is the bitmapped image and the number of brightness which show active oxygen elimination luminescence (the brightness as Y, brightness as Z, brightness as X) of agaricus (Z mold anti-oxidant) and heat treatment chlorella (Y mold anti-oxidant) equivalent mixture.

[Translation done.]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-235084

(P2002-235084A)

(43) 公開日 平成14年 8 月23日 (2002. 8. 23)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-ト* (参考)
C 0 9 K 15/34		C 0 9 K 15/34	4 B 0 1 8
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	B 4 C 0 8 3
			A 4 C 0 8 7
A 6 1 K 7/00		A 6 1 K 7/00	K 4 C 0 8 8
35/64		35/64	4 H 0 2 5
審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 8 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願2001-31840(P2001-31840)

(22) 出願日 平成13年 2 月 8 日 (2001. 2. 8)

(71) 出願人 500451388

財団法人 石川天然薬効物質研究センター
石川県金沢市福島町ヌ108

(71) 出願人 599006498

山口 宣夫
石川県河北郡内灘町字大清水61番地

(72) 発明者 山口 宣夫

石川県河北郡内灘町大清水61番地

(72) 発明者 片桐 幹之

栃木県宇都宮市御幸ヶ原町89-604番地

(74) 代理人 100091096

弁理士 平木 祐輔 (外 1 名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗酸化剤

(57) 【要約】

【解決手段】 アガリクス、メシマコブ、及びプロポリスから成る群から選択される1種を有効成分として含有することを特徴とする抗酸化剤、ならびにアガリクス、メシマコブ、プロポリス、及び常圧下または加圧下で熟処理したクロレラからなる群から選択される2種の混合物を有効成分として含有することを特徴とする抗酸化剤；当該抗酸化剤を酸化剤を含有することを特徴とする医薬品、食品、化粧品などの組成物。

【効果】 本発明によれば、優れた活性酸素消去作用を有する抗酸化物質の1種、または2種の混合物を有効成分として含有させた抗酸化剤が提供される。本発明の抗酸化剤を含有してなる医薬品、食品、化粧品等の組成物は、生体内に生成した活性酸素質により引き起こされる障害を抑制する効果があり、医療上非常に有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 アガリクス、メシマコブ、及びプロボリスから成る群から選択される1種を有効成分として含有することを特徴とする抗酸化剤。

【請求項2】 アガリクス、メシマコブ、プロボリス、及び常圧下または加圧下で熱処理したクロレラからなる群から選択される2種の混合物を有効成分として含有することを特徴とする抗酸化剤。

【請求項3】 有効成分がアガリクスとメシマコブの混合物である、請求項2に記載の抗酸化剤。

【請求項4】 有効成分がアガリクスとプロボリスの混合物である、請求項2に記載の抗酸化剤。

【請求項5】 有効成分がアガリクスと常圧下又は加圧下で熱処理したクロレラの混合物である、請求項2に記載の抗酸化剤。

【請求項6】 請求項1から5のいずれか1項に記載の抗酸化剤を含有することを特徴とする組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、アガリクス、メシマコブ、及びプロボリスから成る群から選択される1種、あるいはアガリクス、メシマコブ、プロボリス、及び常圧下または加圧下で熱処理したクロレラから成る群から選択される2種の混合物を有効成分として含有することを特徴とする抗酸化剤に関する。更に、本発明は、当該抗酸化剤を含有することを特徴とする各種組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、細胞に酸素が呼吸過程で生じるほか、放射線や紫外線の照射、発ガン物質の代謝過程等で生じる「活性酸素」が、不飽和脂肪酸と反応して過酸化脂質を生じ、人体に悪影響を及ぼすことが明らかになってきている。活性酸素とは、水や酸素から生成し、不安定な不対電子を持つ反応性に富んだ分子種であり、一般には、スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシルラジカル、過酸化水素、一重項酸素の4種をいう。活性酸素は、多すぎると生体成分である脂質やタンパク、核酸等の酸化障害を引き起こし、ガンや動脈硬化、糖尿病等の疾病の原因になり、老化促進にもつながる。このように、活性酸素は生体に悪影響を及ぼすゆえ、これを消去する作用を有する抗酸化物質が近年注目されており、数多くの報告がある。最も名高いのは、ワインやチョコレートのポリフェノール成分であり、この含量を高めた高ポリフェノール食品が開発されている。その他、抗酸化物質としては、各種のフラボノイド類及びそれらの関連成分（カテキン、ケルセチン、ケンフェロール、ミリセチン、ルチン、アントシアニンやサポニン類等）が知られている。本発明者らは、これら従来から知られる抗酸化物質よりも優れた活性酸素消去作用を有する新たな抗酸化物質の探索研究の結果、常圧下又は加圧下で熱処

置したクロレラに、優れた活性酸素消去作用があることを見出した（特願2000-293452号）。

【0003】一概に抗酸化物質といっても、その作用機序は様々であり、活性酸素と直接反応して単独で抗酸化作用を発揮する物質、あるいはこの反応を促進する触媒様の働きによって補助的に抗酸化作用を発揮する物質がある。従って、抗酸化物質については、これまでと同様、新たな抗酸化物質の探索に加え、それら抗酸化物質の単一の効果のみならず、複数の組みあわせによる効果の観点から、さらなる研究が望まれるところである。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、優れた活性酸素消去作用を有する新たな抗酸化物質を探索し、それを抗酸化剤として提供するとともに、相異なる作用機序を有する2種の抗酸化物質を組みあわせて、その抗酸化作用を相補・相加的に増強させた抗酸化剤を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、アガリクス、メシマコブ、プロボリスについて優れた活性酸素消去作用を有することを新たに見出すとともに、アガリクスの抗酸化性と、メシマコブ、プロボリス、クロレラの抗酸化性とは互いに異なり、それらを組みあわせると互いの抗酸化作用を相補・相加的に増強できることを見出し、本発明を完成させるに至った。

【0006】即ち、本発明は、アガリクス、メシマコブ、及びプロボリスから成る群より選択される1種を有効成分として含有することを特徴とする抗酸化剤である。本発明はまた、アガリクス、メシマコブ、プロボリス、及び常圧下または加圧下で熱処理したクロレラからなる群より選択される2種の混合物を有効成分として含有することを特徴とする抗酸化剤である。さらに、本発明は、上記抗酸化剤を含有することを特徴とする、組成物である。以下、本発明をより詳細に説明する。

【0007】

【発明の実施の形態】（1）本発明において使用する抗酸化物質の特性および調製

①アガリクスの調製

アガリクス茸 (*Agaricus blazei murill*) は、担子菌類ハラタケ科に属し、β-D-グルカンをも最も多く含む多糖体キノコであり、カワリハラタケとも呼ばれている。β-D-グルカンは免疫細胞と関連のある物質として注目されているため、アガリクスは健康維持成分として期待されている。本発明の抗酸化剤に使用する抗酸化物質は、上記アガリクスの子実体または菌糸体部分であって、自然界から採取される天然品、あるいは人工的にタンク培養した培養品のいずれであってもよい。子実体または菌糸体は微粒子に粉碎したものをを用いることが好ましいが、熱水抽出し、凍結乾燥したものをを用いてもよい。

【0008】②メシマコブの調製

メシマコブ (*Phellinus linteus*) は、担子菌類サルノコシカケ科に属し、同じく β -D-グルカンをも多く含むキノコであり、桑黄キノコとも呼ばれている。 β -D-グルカンは免疫細胞と関連のある物質として注目されているため、メシマコブは東方アジア諸国においては健康維持成分として飲食用にされている。本発明の抗酸化剤に使用する抗酸化成分は、上記メシマコブの子実体または菌糸体であって、自然界から採取される天然品、あるいは人工的にタンク培養した培養品のいずれであってもよい。子実体または菌糸体は微粒子に粉碎したものをを用いることが好ましいが、熱水抽出し、凍結乾燥したものをを用いてもよい。

【0009】③プロポリスの調製

プロポリスはミツバチが、樹木から採取した樹脂に、ハチ自身の唾液中の分泌物を混ぜ合わせて作られるもので、「ハチヤニ」とも呼ばれている。プロポリスは、各種ミネラルや植物のフラボノイドなどが豊富に含まれているため、健康食品素材として愛用されている。本発明の抗酸化剤に使用する抗酸化物質は、上記プロポリスであって、自然界に生息するミツバチ、または人為的に飼育したミツバチから採取した天然のプロポリス、あるいはこれを水溶性のアルコールで抽出し精製したプロポリスのいずれであってもよい。

【0010】④常圧下又は加圧下で熱処理したクロレラの調製

本発明において使用するクロレラは、クロレラ属に属する緑藻類であれば任意のものを選択することができ、特定の種に限定されるものではない。本発明では、入手が容易で安全性に優れている点で、クロレラ・ブルガリス (*Chlorella vulgaris*)、クロレラ・レギュラリス (*Chlorella regularis*)、クロレラ・ピレノイドサ (*Chlorella pyrenoidosa*)、クロレラ・エリプソソリディア (*Chlorella el lipsoidea*) 等を使用することができる。

【0011】上記クロレラは、独立的培養法又は従属的培養法等の任意の培養法により培養し、増殖させることができる。独立的培養法とは、無機金属塩及び窒素源を加えた培地にクロレラを接種し、光照射下に炭酸ガスを含む空気を吹き込んで光合成を行わせて培養する方法であり、従属的培養法とは、炭素源としてグルコースや酢酸を含む培地中で培養する方法である。

【0012】独立的培養法において、培地に加える無機塩としては KH_2PO_4 、 MgSO_4 等の微量無機成分が挙げられ、窒素源としては硫酸アンモニウム、尿素等が挙げられる。光源には、太陽光のほか植物栽培用ランプ等の人工光源を用いることができる。一方、従属的培養法は、培養タンクを用いて無菌的に行うことが望ましい。培地には炭素源としてグルコースや酢酸を含有させ、独立的培養法と同様、微量無機成分及び窒素源を添加したものが用いられる。培養の際には、通気して炭酸ガスの補給

と攪拌を行う。これらの培養は、露天培養でもよく、タンク内閉鎖培養でもよい。これらの方法にて培養した後のクロレラ細胞を純水にて遠心洗浄し（例えば1000rpm、10分）、浮遊液を得る。浮遊液の濃度は 1×10^8 細胞/ml以下が望ましく、 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 細胞/mlがさらに望ましい。

【0013】次に、得られたクロレラ浮遊液を常圧下又は加圧下で熱処理を行う。上記の「常圧下で熱処理する」とは、 $80 \sim 100^\circ\text{C}$ の常圧（1気圧）蒸気又は熱源発生装置にて処理することをいい、「加圧下で熱処理する」とは、 100°C 以上、好ましくは $120^\circ\text{C} \sim 150^\circ\text{C}$ の加圧（2気圧 \sim 8気圧）蒸気又は熱源発生装置にて処理することをいう。常圧下での熱処理は、常圧下（1気圧）で加熱可能な容器内で行うことができ、また、加圧下での熱処理は、オートクレーブ又は加圧下で加熱可能な容器内で行うことができる。

【0014】また、処理時間は、圧力と逆の相関が生ずるように調節することが好ましい。すなわち、圧力をx軸に、処理時間をy軸とした2次元座標において、 $xy \geq 5$ となるように圧力及び処理時間を設定する。本発明では、 $xy = 5 \sim 10$ （すなわち $5 \leq xy \leq 10$ ）の範囲が好ましい。例えば、 $5 \leq xy \leq 10$ となる条件を選択すると、圧力（x）を5気圧としたときは処理時間（y）は1分 \sim 2分とし、圧力を2気圧としたときは処理時間は2.5分 \sim 5分とする。

【0015】(2) 抗酸化剤及び各種組成物の調製
以上のようにしてそれぞれ得られたアガリクス、メシマコブ、プロポリス、常圧下又は加圧下で熱処理したクロレラは、単独でまたはそれらの2種を組みあわせて、優れた活性酸素除去作用を有することから、そのまま、又は通常用いられる固体担体、液体担体、乳化剤等により錠剤、顆粒剤、散剤、粉剤、水和剤、乳剤、カプセル剤等の剤形に自公知の手法にて製剤化して抗酸化剤として使用することができる。上記担体としては、水、ゼラチン、澱粉、ステアリン酸マグネシウム、ラクトース、アラビアゴム、植物油等が挙げられる。上記でアガリクス、メシマコブ、プロポリス、常圧下又は加圧下で熱処理したクロレラから選ばれる2種の混合物として用いる場合、好ましい組み合わせとしては、アガリクスとメシマコブ、アガリクスとプロポリス、アガリクスと常圧下又は加圧下で熱処理したクロレラなどが例示される。

【0016】本発明の抗酸化剤における有効成分として、アガリクス、メシマコブ、プロポリスのいずれか1種を用いる場合、それらの含有量は、特に限定はされないが、 $0.001 \sim 20.0$ 重量%、好ましくは、 $0.01 \sim 10.0$ 重量%とすることが例示される。本発明の抗酸化剤における有効成分として、アガリクス、メシマコブ、プロポリス、常圧下または加圧下で熱処理したクロレラから選択される2種の混合物を用いる場合、上

記と同様の含有量とし、混合物中の2種成分の比率を1:1、2:1、または1:2にすることが例示される。

【0017】本発明の抗酸化剤を含有する組成物は、上記抗酸化剤を配合することを特徴とし、その用途は任意であるが、医薬品、食品、化粧品等が挙げられる。また、適用対象はヒトのほか、愛玩動物でもよい。

【0018】本発明の抗酸化剤を含有した医薬組成物は、紫外線、生体内食細胞、放射線、化学物質、タバコ、ストレス等により必要以上に生じた活性酸素が関わりとされている各種疾患、例えば、糖尿病合併症、心筋梗塞、動脈硬化、肺炎、喘息、脳梗塞、パーキンソン病、胃潰瘍、各種の悪性腫瘍、肝炎、膵炎、腎炎、アトピー性皮膚炎、膠原病、関節リウマチ、高コレステロール血症、白内障、不定愁訴(冷え性、腰痛、肩こり、便秘)、パーチェット症候群、クローン病、レイノー病、顔面色素異常沈着症(しみ、そばかす)等の予防・治療に有効である。

【0019】本発明の抗酸化剤を上記各疾患の予防治療用医薬組成物として用いる場合、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ等の哺乳動物に対して非経口的に又は経口的に安全に投与することができる。本医薬組成物の投与量は、剤形、投与ルート、症状等により適宜変更しうるが、アガリクス、メシマコブ、プロポリスのいずれか1種、又はアガリクス、メシマコブ、プロポリス、常圧下または加圧下で熱処理したクロレラから選択される2種の混合物を、一日につき体重1kgあたり100mg〜5000mgを適用することが例示される。

【0020】本発明の抗酸化剤を含有させる食品としては、活性酸素により酸化され、過酸化脂質になりやすい不飽和脂肪酸を多く含むマーガリン、植物性油等の油脂類をはじめ、米飯類、菓子類、麺類、カマボコ・チクワ等の水産練り製品、ハム・ソーセージ等の畜肉加工品、清涼飲料・果実飲料等の飲料類、マヨネーズ・ドレッシング・味付け調味液等の調味料等が挙げられ、これらに限定はされない。

【0021】本発明の抗酸化剤を含有させる化粧品としては、例えば、化粧水、乳液、クリーム、ファンデーション、洗顔料、ヘアケア製品(シャンプー、リンス、ヘアトリートメント)等を挙げることができる。これらの化粧品には、通常の化粧品に使用される界面活性剤、保湿剤、美白剤、紫外線吸収剤、香料、防腐剤等を適宜配合してもよい。

【0022】

【実施例】以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明はこれら実施例に何ら限定されるものではない。

【実施例1】 (抗酸化物質の調製)

(1) アガリクスの調製

アガリクス (*Agaricus blazei murill*) は、自然界に自

生する標品から子実体を分離し、これを平均粒子50〜100 μ mに粉碎することにより得た。

(2) メシマコブの調製

メシマコブ (*Phellinus linteus*) は、自然界に自生する標品から子実体を分離し、平均粒子50〜100 μ mに粉碎することにより得た。

(3) プロポリスの調製

プロポリスは、人為的に飼育する飼育種のミツバチ (*Apis mellifera*; 俗称西洋ミツバチ) から採取することにより得た。

(4) 加圧下熱処理クロレラの調製

クロレラ (*Chlorella Pyrenoidosa*) は、デトマー培地、Myers-N培地で選択的に増殖させた後、25℃で露天培養し、培養後のクロレラ細胞を純水にて遠心洗浄し(1000rpm、10分)、浮遊液を得た。浮遊液の濃度は1 \times 10⁸個/mlとした。このクロレラ浮遊液を120℃2気圧の条件下で1分間処理することにより、加圧下熱処理クロレラを得た。

【0023】〔実施例2〕 活性酸素消去試験(1)

大久保一良らのNYZ微弱発光法(ジャパンフードサイエンス、第38巻、8号、18-21(1999))に従って、実施例1で得られたアガリクス、メシマコブ、プロポリス、熱処理クロレラを試料とし、その活性酸素消去能を測定した。本方法は、天然ラジカル消去物質が活性酸素及びアセトアルデヒド存在下で微弱発光する現象を利用して、活性酸素消去能の測定に用いられている。この微弱発光は、X(活性酸素種)、Y(プロトン、エレクトロン供与体)、Z(触媒種)の三つ巴反応で生じ、Y(活性酸素消去電子供与体)としての作用、及びZ(活性酸素消去反応触媒)としての能力、つまり活性酸素消去能力の強弱が発光輝度としてビットマップイメージ上に現れ、数値化することができるので、活性酸素消去物質のアッセイに有用である。

【0024】まず、各試料0.5gをそれぞれ10%アセトアルデヒド4mlに溶解し、1mlずつ各ウェルに入れた。これに、X試薬(2%ギ酸溶液)、Y試薬(10%没食子酸アセトアルデヒド溶液)、Z試薬(10%KHCO₃アセトアルデヒド・1-ブタノール溶液)を、X試薬単独、XY試薬、XZ試薬、YZ試薬の組み合わせで各1ml加え、10分間反応させ、高感度CCDカメラで観察し、発光輝度を東洋紡績(株)製のLumi no Imaging Analyzer FAS-1000を用いて測定し、Media Cybernetic社製のGel-Pro Analyzerを用いて定量した。各試料のYとしての輝度(XZ試薬で発光を観察)、Zとしての輝度(XY試薬で発光を観察)、Xとしての輝度(YZ試薬で発光を観察)を下記表1に示す。また、それらの輝度を示すビットマップイメージを図1に示す。

【0025】

【表1】

試料	Yとしての輝度	Zとしての輝度	Xとしての輝度
アガリクス	1,520	866,694	—
メシマコブ	99,829	2,011	—
プロボリス	69,778	0	—
熱処理クロレラ	187,745	11,135	—

【0026】上記結果から明らかなように、アガリクスは、強いZ発光が観察され、Z型発光性抗酸化剤であることがわかる。これに対し、メシマコブとプロボリスは強いY発光が観察され、Y型発光性抗酸化剤であることがわかる。また、熱処理クロレラは、非常に強いY発光とともに微弱なZ発光も観察され、Y型発光性抗酸化剤であるとともに、Z型発光性抗酸化剤であることがわかる。

【0027】〔実施例3〕 活性酸素消去試験(2)
実施例1で得られたアガリクスとメシマコブを15mgずつ等量混合して調製した試料を10%アセトアルデヒド1mlに溶解し、それぞれウェルに入れた。これに、X試薬(2%ギ酸溶液)、Y試薬(10%没食子酸アセ

トアルデヒド溶液)、Z試薬(10%KHCO₃アセトアルデヒド・1-ブタノール溶液)を、X試薬単独、XY試薬、XZ試薬、YZ試薬の組み合わせで各1ml加え、10分間反応させ、実施例2と同様にして発光を高感度CCDカメラで観察し、発光輝度の測定・定量を行った。アガリクスとメシマコブの等量混合物試料のYとしての輝度(XZ試薬で発光を観察)、Zとしての輝度(XY試薬で発光を観察)、Xとしての輝度(YZ試薬で発光を観察)の測定結果を、単独試料の結果と共に下記表2に示す。また、それらの輝度を示すビットマップイメージを図2に示す。

【0028】

【表2】

試料	Yとしての輝度	Zとしての輝度	Xとしての輝度
アガリクス	9,815	885,842	1.7
メシマコブ	68,719	625	—
等量混合物	2,293.5	887.6	—

【0029】上記結果から明らかなように、Z型発光性のアガリクスと、Y型発光性のメシマコブの等量混合物は、Y発光とZ発光がバランスよく観察され、両者の相異なる抗酸化性を相補・相加的に供えた対酸化剤であるといえる。

【0030】〔実施例4〕 活性酸素消去試験(3)
実施例1で得られたアガリクスとプロボリスを15mgずつ等量混合して調製した試料を10%アセトアルデヒド1mlに溶解し、それぞれウェルに入れた。これに、X試薬(2%ギ酸溶液)、Y試薬(10%没食子酸アセトアルデヒド溶液)、Z試薬(10%KHCO₃アセトアルデヒド・1-ブタノール溶液)を、X試薬単独、X

Y試薬、XZ試薬、YZ試薬の組み合わせで各1ml加え、10分間反応させ、実施例2と同様にして発光を高感度CCDカメラで観察し、発光輝度の測定・定量を行った。アガリクスとプロボリスの等量混合物試料のYとしての輝度(XZ試薬で発光を観察)、Zとしての輝度(XY試薬で発光を観察)、Xとしての輝度(YZ試薬で発光を観察)の測定結果を、単独試料の結果と共に下記表3に示す。また、それらの輝度を示すビットマップイメージを図3に示す。

【0031】

【表3】

試料	Yとしての輝度	Zとしての輝度	Xとしての輝度
アガリクス	1,470	326,940	—
プロボリス	107,918	0	—
等量混合物	85.8	30,840	—

【0032】上記結果から明らかなように、Z型発光性のアガリクスと、Y型発光性のプロボリスの等量混合物は、Y発光とZ発光がバランスよく観察され、両者の相異なる抗酸化性を相補・相加的に供えた対酸化剤になるといえる。

【0033】〔実施例5〕 活性酸素消去試験(4)
実施例1で得られたアガリクスと熱処理クロレラを80mgずつ等量混合して調製した試料を10%アセトアルデヒド1mlに溶解した。この溶解液を原液とし、倍々希釈した液0.5mlをウェルに入れた。X試薬(2%ギ酸溶液)、Y試薬(10%没食子酸アセトアルデヒド溶液)、Z試薬(10%KHCO₃アセトアルデヒド・

1-ブタノール溶液)を、X試薬単独、XY試薬、XZ試薬、YZ試薬の組み合わせで各1ml加え、10分間反応させ、実施例2と同様にして発光を高感度CCDカメラで観察し、発光輝度の測定・定量を行った。アガリクスと熱処理クロレラの等量混合物試料[低濃度(15mg)、中濃度(30mg)、高濃度(60mg)]のYとしての輝度(XZ試薬で発光を観察)、Zとしての輝度(XY試薬で発光を観察)、Xとしての輝度(YZ試薬で発光を観察)の測定結果を、単独試料の結果と共に下記表4に示す。また、それらの輝度を示すビットマップイメージを図4に示す。

【0034】

【表4】

試料	Yとしての輝度	Zとしての輝度	Xとしての輝度
アガリクス	6,531	95,584	—
熱処理クロレラ	77,689	2,361	—
等量混合物（低濃度）	54,695	3,486	—
等量混合物（中濃度）	76,885	12,368	—
等量混合物（高濃度）	124,695	112,695	—

【0035】上記結果から明かなように、Z型発光性のアガリクスと、Y型発光性の熱処理クロレラの等量混合物は、Y発光とZ発光がバランスよく観察され、また濃度を上げるとさらにその効果が顕著となって、両者の相異なる抗酸化性を相補・相加的に供えた対酸化剤になるといえる。

【0036】

【発明の効果】本発明によれば、優れた活性酸素消去作用を有する抗酸化物質の1種または2種の混合物を有効成分として含有させた抗酸化剤が提供される。また、本発明の抗酸化剤を含有してなる医薬品、食品、化粧品等の組成物は、生体内に生成した活性酸素質により引き起こされる障害を抑制する効果があり、医療上非常に有用である。

【図面の簡単な説明】

【図1】アガリクス、プロポリス、メシマコブ、及び熱

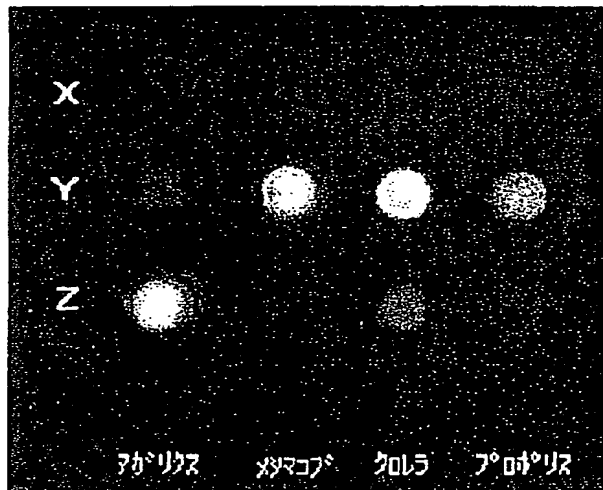
処理クロレラ単独の活性酸素消去発光（Yとしての輝度、Zとしての輝度、Xとしての輝度）を示すビットマップイメージ及び輝度数である。

【図2】アガリクス（Z型抗酸化剤）とメシマコブ（Y型抗酸化剤）等量混合物の活性酸素消去発光（Yとしての輝度、Zとしての輝度、Xとしての輝度）を示すビットマップイメージ及び輝度数である。

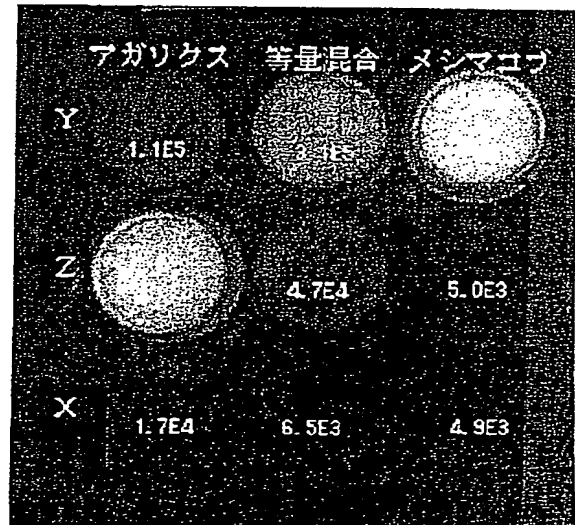
【図3】アガリクス（Z型抗酸化剤）とプロポリス（Y型抗酸化剤）等量混合物の活性酸素消去発光（Yとしての輝度、Zとしての輝度、Xとしての輝度）を示すビットマップイメージ及び輝度数である。

【図4】アガリクス（Z型抗酸化剤）と熱処理クロレラ（Y型抗酸化剤）等量混合物の活性酸素消去発光（Yとしての輝度、Zとしての輝度、Xとしての輝度）を示すビットマップイメージ及び輝度数である。

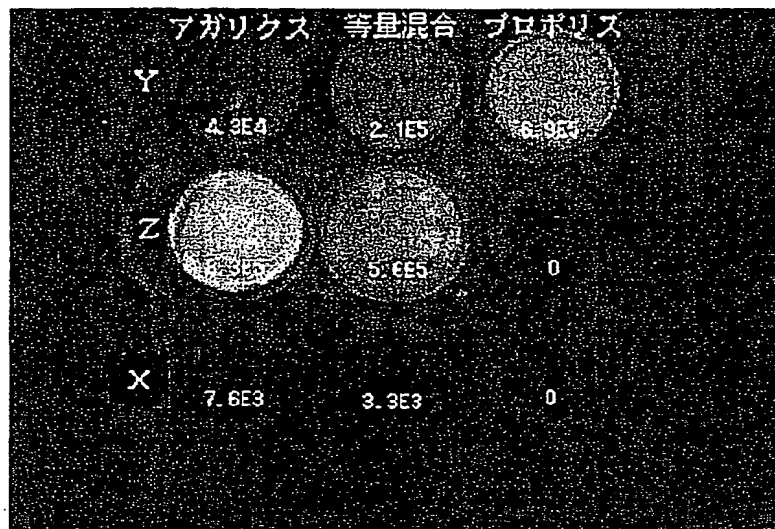
【図1】



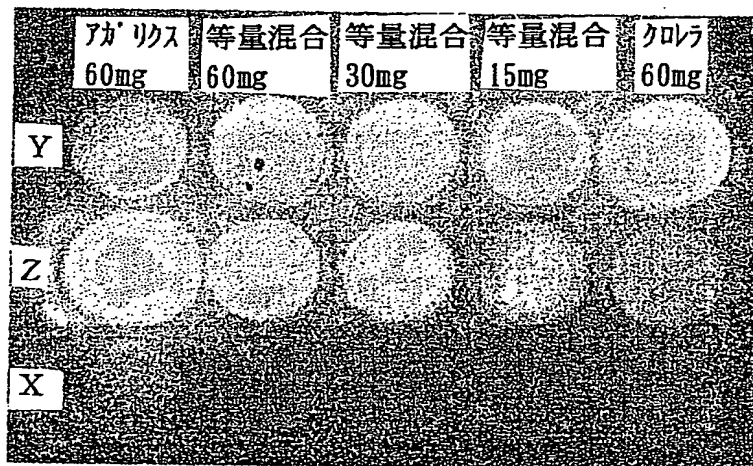
【図2】



【図3】



【図4】



フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコ-ド (参考)
A 6 1 K 35/80		A 6 1 K 35/80	
35/84		35/84	A
A 6 1 P 3/10		A 6 1 P 3/10	
9/10	1 0 1	9/10	1 0 1
35/00		35/00	
43/00	1 0 5	43/00	1 0 5

F ターム(参考) 4B018 MD48 MD78 MD80 ME06
4C083 AA071 AA072 AA111 AA112
CC04 CC05 CC12 CC23 CC33
CC38 CC39 DD23 DD27
4C087 AA02 BB22 MA02 NA05 NA06
ZA45 ZB26 ZC35 ZC75
4C088 AA04 AA07 AA16 AC09 AD10
BA07 CA01 MA07 NA05 NA06
ZA45 ZB26 ZC35 ZC75
4B025 BA01

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.